

Recherches
Relatives à l'Utilisation Éventuelle
du Venin de la Vipère Commune
en Thérapeutique Humaine

THÈSE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE LE 1937

PAR

JACQUELINE LEROY

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

Jury { MM. LUTZ, président.
LAUNOY, professeur.
RÉGNIER, agrégé.

CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND

RUE FULBERT

1937



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Recherches
Relatives à l'Utilisation Éventuelle
du Venin de la Vipère Commune
en Thérapeutique Humaine

THÈSE
POUR L'OBTENTION DU DIPLOME
DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE LE

1937

PAR

JACQUELINE LEROY

PHARMACIEN DE PREMIÈRE CLASSE

Jury { MM. LUTZ, président.
LAUNOY, professeur.
RÉGNIER, agrégé.

CHARTRES
IMPRIMERIE DURAND

RUE FULBERT

1937

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. GUÉRIN, Doyen, O. *,  I.
P. LEBEAU, Assesseur, O. *,  I.
P. DESPORT, Secrétaire, *,  I.

PROFESSEURS

MM. GUÉRIN, O. *,  I. Botanique générale.
PERROT, C. *,  I. Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. *,  I. Zoologie.
LEBEAU, O. *,  I. Pharmacie chimique.
Membre de l'Institut.
BOUGAULT, O. *,  I. Chimie analytique.
GORIS, O. *,  I. Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. *,  I. Physique.
DAMIENS, *,  I. Chimie minérale.
HÉRISSEY, O. *,  I. Chimie biologique.
SOMMELET, *,  I. Chimie organique.
LUTZ, *,  I. Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, *,  I. Toxicologie.
LAUNOY, O. *,  I. Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. *,  I.

Professeurs honoraires : MM. BÉHAL, G. O. *,  I.,
DELEPINE, O. *,  I.,
Membres de l'Institut ;
M. GUERBET, *,  I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, *,  I. Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. *,  I. Pharmacodynamie.
DELABY, *,  I. Hydrologie et Hygiène.
PICON,  I. Minéralogie.
BACH,  I. Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, *,  A.	MM. MASCRÉ,  I.	MM. BEDEL,  I.
PICON,  I.	FLEURY,  I.	RÉGNIER,  I.
	BACH,  I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL,  I., agrégé, chargé des T.P. de 1^{re} année. Chimie générale.
FLEURY,  I., et RÉGNIER,  I., agrégés, chargés des travaux de. Chimie analytique.
SOUÈGES,  I. Micrographie.
LEROUX, *,  I. Physique.
DEVAL, *,  I. Microbiologie.
DELABY, *,  I., PICON,  I., et MASCRÉ,  I. :
agrégés, chargés des travaux généraux de 4^e année.

Bibliothécaire en chef : M. GARNIER,  A.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR LUTZ

Chevalier de la Légion d'honneur

*qui a bien voulu accepter la présidence de
notre thèse, nous adressons l'expression
de notre respectueuse reconnaissance.*

A MONSIEUR E. CÉSARI

Docteur-Vétérinaire
Chef de Service à l'Institut Pasteur

*qui nous inspira l'idée de ce travail et qui
facilita notre tâche, nous offrons, avec nos
sincères remerciements, le faible témoi-
gnage de notre bien vive gratitude.*

INTRODUCTION

Depuis quelques années, l'emploi médicinal des venins de Serpents connaît une vogue qui rend indispensable une étude plus approfondie des conditions régissant l'utilisation de ces puissants agents thérapeutiques.

Le seul venin que l'on puisse se procurer facilement en France, dans la plupart des régions, est celui de la Vipère commune (*Vipera aspis*). C'est ce venin que nous avons choisi pour nos recherches. Nous nous sommes proposé d'étudier les variations que subissent les propriétés de ce venin susceptibles d'être mises à profit, médicalement parlant, suivant les circonstances qui président à sa récolte, à sa conservation et à l'innocuité de son emploi chez l'homme.

Avant d'exposer nos propres investigations, nous rappellerons brièvement, dans une première partie, quelques notions sur les caractères extérieurs de la vipère, ses mœurs, sa nourriture, son habitat, la composition et les propriétés de son venin ; nous indi-

querons, dans un chapitre spécial, l'usage des venins de serpents dans la thérapeutique ancienne et moderne.

Dans une deuxième partie, nous relaterons les expériences qui ont trait à la toxicité et au pouvoir coagulant du venin de Vipère ; après avoir indiqué les méthodes de titrage, nous étudierons les variations saisonnières de l'activité du venin, les moyens de stérilisation que l'on peut mettre en œuvre pour le rendre inoffensif au point de vue microbien et la conservation de ses propriétés en solution aqueuse et à l'état sec.

PREMIÈRE PARTIE

Caractères extérieurs de la Vipère aspic. — La Vipère aspic se distingue de la Couleuvre par son corps plus trapu ; sa tête, peu différenciée du reste du corps, est aplatie, triangulaire, le museau est relevé à son extrémité ; la queue est courte. L'œil est caractérisé par sa pupille, qui est obliquement verticale. Tous les Serpents de France qui ont une telle pupille sont des Vipérés, et tous ceux qui ont en outre le museau relevé sont des Vipères aspic.

La longueur du corps est variable avec les sujets ; chez les mâles, elle peut atteindre 0^m,68 à 0^m,70, dont 9^{cm},5 pour la queue ; pour les femelles, elle ne dépasse pas 0^m,62 à 0^m,65, dont 7^{cm},5 pour la queue.

La couleur des téguments varie, avec les régions, du gris au rouge orangé, en passant par toutes les teintes de brun. Généralement, des taches plus sombres marquent la tête ; elles peuvent affecter la forme d'un V renversé, à pointe antérieure, plus ou moins net. Ces dessins sont beaucoup plus appuyés chez les mâles ; chez les femelles, ils sont très estompés et parfois réduits à une série de taches, quand ils ne font pas complètement défaut. La face ven-

trale est généralement plus claire, grisâtre ou rosée ; chez les mâles, elle est généralement d'un gris uniforme.

Mœurs de la Vipère aspic. — La Vipère préfère les endroits abrités et éclairés, mais elle demeure rarement en plein soleil ; les broussailles, qui tamisent la lumière, ont sa prédilection. Elle chasse aussi bien la nuit que le jour.

Elle est assez lente dans ses allures, mais, quand elle se croit en danger, elle est prompte à la détente ; aussi constitue-t-elle un véritable danger pour les travailleurs des champs, qui sont surtout mordus au moment de la sieste.

Pour éviter ses morsures, il suffit de ne pas l'inquiéter inutilement ; d'autre part, elle ne peut pas s'élancer à une distance supérieure à la moitié de sa longueur, soit au plus 0^m,35, de sorte que si on ne l'effleure pas, elle reste immobile.

Nourriture de la Vipère aspic. — La Vipère se nourrit principalement de lézards, de souris, campagnols, mulots, musaraignes ; elle va visiter également les nids des oiseaux qui nichent à terre et dévore les petits. Les vipereaux mangent des insectes et des vers. Certains auteurs ont prétendu qu'on pouvait attirer la vipère avec du lait, mais il est bien évident qu'elle préfère de beaucoup l'eau claire.

De novembre à mars, elle ne prend aucune nourriture, elle vit sur son abondante réserve de graisse. D'ailleurs, elle ne s'engourdit pas lourdement comme certains autres animaux hibernants ; dès que le soleil luit, elle sort de son refuge pour se chauffer.

Habitat de la Vipère aspic. — La Vipère se rencontre surtout dans le centre de la France ; on la localise au Sud d'une ligne qui passerait par les départements de la Loire-Inférieure, de l'Orne, de Seine-et-Marne et de Meurthe-et-Moselle. Dans les Pyrénées, on la trouve jusqu'à 2 000 mètres d'altitude, dans les Alpes, jusqu'à 2 900 mètres. En Europe, on la rencontre au Sud de la Forêt-Noire, au Sud du Tyrol, en Suisse, en Italie, en Sicile.

Les vipères qui sont envoyées à l'Institut Pasteur proviennent surtout du Gers, du Maine-et-Loire et de la Haute-Marne ; puis viennent les départements de Charente-Inférieure, Loire-Inférieure, Saône-et-Loire, Rhône, Allier, Isère, Creuse, Côte-d'Or, Jura.

Les premiers envois commencent en mars et proviennent en grande partie du département du Gers ; en juillet et août, les vipères sont fournies surtout par le Maine-et-Loire et la Haute-Marne. La récolte se termine au début de novembre.

Chaque expéditeur adresse à l'Institut Pasteur une cinquantaine de sujets environ ; certains jours, les envois se chiffrent par 200 vipères et plus.

ÉTUDE DU VENIN

Propriétés physiques. — Lorsqu'on comprime la glande venimeuse d'une vipère, le venin s'écoule en deux fines gouttelettes. Cette sécrétion est généralement de couleur jaune ; cependant, MM. Césari, Bauche et Boquet ont signalé que des vipères provenant du Gers (communes de

Puycasquier et Monferran-Savès) fournissent constamment du venin incolore. Après dessiccation, le venin se présente sous forme de paillettes de couleur jaune d'or ou blanche, suivant son origine.

Le venin est complètement inodore, bien que les serpents aient une odeur quelquefois assez forte. Il est également sans saveur, aussi bien à l'état frais qu'à l'état sec.

Le venin, après sa dessiccation, est soluble dans l'eau distillée et dans l'eau additionnée de chlorure de sodium (1 pour 100). Les solutions de venin jaune deviennent légèrement opalescentes, lorsqu'on les porte à la température de 70°, tandis que les solutions de venin blanc forment un abondant précipité.

Composition chimique des venins. — C'est au prince Lucien Bonaparte que sont dues les premières recherches sur la composition du venin de Vipère ; en 1843, il isola du venin de *Vipera berus*, par précipitation par l'alcool, une substance, qu'il nomma Vipérine, et à laquelle il attribua les propriétés toxiques du venin.

En 1860, Weir-Mitchell retire la Crotaline du venin de Crotale, par un procédé identique.

Ces substances, Vipérine et Crotaline, se rapprochent des matières albuminoïdes par certaines réactions ; elles précipitent par l'alcool, elles donnent la réaction du biuret.

En 1883, Weir-Mitchell et Reichert entreprennent des recherches sur les Crotalinés d'Amérique, ils retirent deux substances du venin de *Crotalus adamanteus*, la peptone-venom et la globulin-venom ; cette dernière possède les mêmes propriétés que le venin entier, elle paralyse les

centres respiratoires, elle rend le sang incoagulable, tandis que la peptone-venom est moins toxique.

En 1878, Pedler attribue une nature protéique aux substances actives du venin de Cobra.

En 1886, Norris Wolfenden montre que la toxicité du venin de Cobra est due uniquement aux matières protéiques qu'il ramène à trois : une globuline, une syntonine et une sérine.

En 1892, Kanthack obtient, du venin de Cobra, une protéine, qui est une albumose primaire.

En 1907, Faust retire, du venin de *Naja tripudians*, une substance neurotoxique, non azotée, qu'il nomme Ophiotoxine.

De ces nombreuses recherches, nous pouvons conclure que les substances actives des venins sont généralement de nature albuminoïde ; cependant, en employant des procédés différents, on peut retirer des mêmes venins des substances non azotées (telle l'ophiotoxine). C'est pourquoi, les procédés chimiques n'étant pas très précis, C. Phisalix (1894-1905) a eu recours à l'analyse physiologique, pour déterminer les principes actifs du venin de *Vipera aspis*.

On peut attribuer au venin de *Vipère aspic* la composition suivante :

Eau : 70 à 80 pour 100

Matières extractives : 30 à 20 pour 100.

Et parmi les matières extractives :

Sels : chlorures et phosphates,

Pigment jaune, peu soluble dans l'alcool,

Substance acide indéterminée,

Substances albuminoïdes diverses : albumines, globulines, albumose, peptone, ferments.

Le venin de Vipère comporte à la fois des toxines (neurotoxine, hémorragine) et des diastases (phosphatidases et coagulines) dont nous envisageons ci-dessous les effets.

Pouvoir hémolytique du venin de Vipère. — Lorsqu'on fait agir *in vitro* du venin sur des globules sanguins, on observe, dans certaines conditions, l'hémolyse des globules rouges.

Flexner et Noguchi ont montré, en 1902, que l'hémolyse ne se produit régulièrement que si les globules sont additionnés d'une trace de sérum sanguin : ils en déduisent que le sérum agirait par son complément.

Plus tard, Calmette, reprenant les expériences des auteurs japonais, observa que la substance activante du sérum ne perdait pas ses propriétés sous l'action de la chaleur ; bien plus, chauffé à 100°, le sérum a un pouvoir activant plus élevé que le sérum non chauffé. Le sérum n'intervient donc pas par son alexine, qui est détruite à cette température.

Kyes, après de nombreuses expériences, montre que la substance activante du sérum est la lécithine ; celle-ci se combine au venin, pour former un composé, qu'il appelle le venin-lécithide.

Delezenne, M^{lle} Ledebt et Fourneau (1912-1914) ont élucidé cette question du pouvoir hémolytique des venins et ils en ont décrit le mécanisme. Le venin possède un

proferment qui, activé par les sels de calcium, se transforme en une lipoïdase ; cette lipoïdase attaque les phosphatides du sérum en donnant naissance à de l'acide oléique et à de la lysocithine, substance hémolysante par excellence. La réaction provoquée par le venin est une saponification.

Les globules rouges des différentes espèces animales sont hémolysés plus ou moins par le venin de vipère. D'après Phisalix, les hématies du lapin sont plus résistantes que les hématies du chien.

MM. Césari et Boquet, qui ont étudié le pouvoir hémolytique des venins de *Vipera aspis*, *Cerastes cornutus*, *Naja tripudians* sur les hématies de cheval, ont remarqué que si la formation de la lysocithine s'opérait mieux à la température de l'étuve qu'à 0°, par contre la lysocithine possédait un pouvoir hémolytique plus considérable à 0° qu'à 37°. Les expériences ont donc lieu en deux temps : 1° formation de lysocithine dans le mélange venin + sérum, placé à l'étuve, pendant une heure ; 2° action de la lysocithine sur les globules rouges, opération qui se fait dans un bain de glace fondante, pendant une demi-heure.

Dans ces conditions, la quantité de venin nécessaire pour provoquer l'hémolyse de 1 centimètre cube d'une suspension de globules rouges de cheval à 5 pour 100 est 0^{mg}₆,00035.

Pouvoir coagulant et anticoagulant du venin de Vipère.

— Depuis les observations primitives de Geffroy et Hunauld (1737), puis de Brainard (1854), de nombreux travaux ont eu pour objet l'étude des propriétés coagu-

lantes et anticoagulantes des venins de Vipéridés sur le sang.

En 1893, C.-J. Martin constate que les venins de *Pseudechis porphyriacus* et de *Notechis scutatus*, à faibles doses, augmentent la coagulabilité du sang ; par contre, le sang, additionné de fortes doses de ces mêmes venins, reste fluide.

Lamb, en 1901, parvint à déterminer la coagulation du plasma citraté par addition de venin de Daboïa. Deux ans plus tard (1902-1903), Lamb et Hanna constatèrent qu'à fortes doses, ce venin provoque chez les animaux auxquels il est injecté, des thromboses vasculaires étendues ; tandis qu'à faibles doses, il rend leur sang incoagulable.

Dans un important travail paru en 1904, Noc étudie les propriétés coagulantes du venin de *Lachesis* à l'égard des plasmas citratés de cheval et de lapin. Sans exclure l'hypothèse que les venins agissent comme des thrombines spécifiques, il pense que le venin de *Lachesis* possède, entre autres propriétés, celle d'activer la formation de la thrombine du sang. L'année suivante, C.-J. Martin établit le fait que la propriété coagulante d'un certain nombre de venins de Vipéridés relève de thrombines spécifiques.

Le mécanisme de la coagulation du sang par les venins a été élucidé par les recherches d'Arthus (1910-1918), Houssay et Sordelli (1918), Vital Brazil et J. Vellard (1928).

Arthus, en particulier, a étudié d'une manière précise, les effets *in vivo* des injections de venins de Vipéridés. Ceux-ci, à fortes doses, déterminent des thromboses vasculaires ; à faibles doses, ils provoquent une précipitation

lente du fibrinogène et par suite une phase plus ou moins longue d'incoagulabilité du sang.

Houssay et Sordelli, puis Vital Brazil et J. Vellard ont constaté que les venins de Vipéridés agissaient *in vitro*, sur le plasma, comme des thrombines et qu'ils exerçaient sur le sérozyme, le cytozyme ou le fibrinogène des actions modificatrices diverses suivant le venin envisagé.

De tous ces travaux, il ressort que le pouvoir coagulant des venins de Vipéridés est dû à une thrombine spécifique. Le pouvoir anti-coagulant est lié à la présence soit d'un ferment lipœdolytique, agissant sur le cytozyme, soit d'un ferment protéolytique, détruisant le sérozyme ou le fibrinogène.

UTILISATION DES SERPENTS ET DES VENINS EN THÉRAPEUTIQUE

Dès la plus haute antiquité, les venins et les serpents ont eu leur place dans la thérapeutique. A la fin de l'époque des Pharaons, on utilisait déjà les vipères, sous forme d'extrait aqueux, contre la lèpre, l'éléphantiasis et tous les cancers cutanés.

M^{me} Phisalix rapporte que certaines tribus du Nord de l'Afrique pratiquent l'ophiophagie, dans l'espoir, peut-être illusoire, d'assurer à leurs descendants l'immunité contre les morsures de serpents. En 1895, Fraser (Edimbourg) a obtenu une certaine immunité par absorption buccale de venin de vipère. Afin de se protéger des effets de la morsure du serpent à sonnettes, les indigènes de la côte orientale

du Mexique se font des éraflures sur tout le corps avec des crochets de Crotale.

Pierre d'Abano, dans son « Traité des Venins », assure que la graisse et la chair des serpents sont d'une très grande efficacité non seulement pour la guérison des plaies récentes, mais aussi des ulcères et morsures venimeuses.

La vipère fut très en honneur au ^{xvii}^e siècle, qui, de ce fait, peut être considéré comme le « Siècle de la Vipère » ; cependant, à cette époque, on ignorait encore la partie du corps qui élaborait le venin. La Marquise de Sévigné et ses contemporains utilisaient des extraits aqueux ou bouillons de vipère, comme toniques et dépuratifs. Vallot, le premier médecin du roi, ne manqua pas d'administrer à la duchesse d'Orléans (Madame) de la poudre de vipère dans de l'huile d'olives, ce qui, naturellement, ne l'empêcha pas de mourir, quelques heures plus tard.

Un gentilhomme dauphinois, âgé de 56 ans, guérit de ladrerie, après avoir absorbé du bouillon de Vipère (d'après Louis de la Grive).

C'est surtout la Thériaque, dont la Vipère est l'un des constituants, qui a eu une grande renommée, puisqu'elle est restée au Codex pendant vingt siècles. Son invention date du ⁱⁱⁱ^e siècle avant Jésus-Christ et eut pour origine une défaite navale : dans une bataille entre le général romain, Caius Claudius Néron, et Annibal de Carthage, celui-ci fit jeter sur les navires ennemis des vipères vivantes qui causèrent la mort de nombreux marins ; et Annibal profita de l'affolement général pour gagner la victoire. C'est à la suite de cette défaite mémorable que le général demanda à son médecin, Andromachus, de trouver un

remède contre les morsures de vipères. Celui-ci remania un remède déjà ancien, le mithridat, et y ajouta de la poudre de vipères. A ce moment, la Thériaque comprenait soixante-quatorze substances et constituait une véritable panacée.

Andromachus recommandait d'utiliser pour la préparation de la Thériaque les vipères de printemps, car, c'est à ce moment que leur activité est plus grande ; au début de l'été, elles perdent leur vertu.

Galien composait toujours la Thériaque à la fin du printemps ; il la malaxait aussi bien avec les mains qu'avec la spatule, afin que l'air pénétrât dans la masse ; cette préparation se faisait au soleil, qui commençait la fermentation du mélange. Il la remuait de sept jours en sept jours, au moins pendant quarante jours.

C'est au ^{xvii}^e siècle, avec Moyse Charas, que la préparation de la Thériaque devint officielle et solennelle. Charas fit de nombreuses expériences afin de déterminer la provenance du venin et ses qualités curatives. « Il y en a qui ont cru, dit-il, que le fiel de Vipère appliqué peut guérir la morsure ; nous ne le croyons pourtant pas, non plus que par l'application de la tête écrasée ; mais nous estimons qu'il est propre seulement à la playe de la morsure, de même qu'à toutes les autres playes, et même aux ulcères, et qu'il a une grande vertu pour les déterger, mondifier et cicatriser. Il est aussi très propre aux maladies des yeux, surtout aux suffusions et aux taves ; bien loin de nuire, étant pris intérieurement ou appliqué par dehors. »

Et en effet, deux siècles plus tard, C. Phisalix devait démontrer que la bile et ses composants (cholestérol, sels

biliaires) avaient une action antagoniste de celle du venin de Vipère.

A l'époque de Charas, les modes d'administration de la Vipère comme médicament variaient suivant les cas. Il y avait le *sel volatil de Vipère*, que l'on obtenait par distillation des vipères (le produit obtenu était du carbonate d'ammoniaque) ; la *poudre de Vipère*, obtenue en pulvérisant, après dessiccation, le corps de la vipère dépouillé et privé de la tête, de la queue et des viscères, sauf le cœur et le foie ; cette poudre était agglutinée avec de la mie de pain et conservée sous forme de plaquettes, appelées *trochisques* ; la *graisse de Vipère* et enfin la *Thériaque*.

Si la Thériaque n'est plus employée maintenant en médecine, les venins des Serpents sont très utilisés actuellement, soit comme analgésiques, soit comme hémostatiques.

Analgésiques. — Self de Clairette, au Texas, en 1910, Spangler, à New-York, en 1914, Calmette et Mezie, à Paris, ont employé avec succès le venin de Crotale dans l'épilepsie.

En 1932, le Dr F.-W. Fitzsimons, à Port-Elizabeth, dans le Sud de l'Afrique, fut appelé à soigner une jeune Hollandaise, qui avait été mordue par un reptile très venimeux, et il lui sauva la vie. Or, pendant la convalescence, il s'aperçut que sa malade, qui était auparavant sujette à des crises d'épilepsie, en était complètement guérie.

Dans la pharmacopée homéopathique, les venins sont en grand honneur. Le venin de Cobra est employé dans les affections cardiaques, en particulier dans l'endocardite infectieuse.

Le plus réputé est le venin de *Lachesis*, qui est utilisé également dans les maladies du cœur. D'après Léon Vannier, il convient à quatre catégories de malades : les alcooliques, les intoxiqués par trouble de la sécrétion interne (accidents de la ménopause), les intoxiqués par toxines endogènes (états cancéreux et précancéreux) et les intoxiqués par surmenage intellectuel et par chocs moraux.

C'est particulièrement le venin de Cobra qui est entré dans la thérapeutique en vue d'atténuer les douleurs du cancer, après les travaux de Monaelesser et Taguet, Calmette, Saenz et Costil, Laignel-Lavastine et Koressios.

C'est au début de 1919, que le D^r Monaelesser, de New-York, en mission à Cuba, fit la curieuse observation suivante : un lépreux, souffrant d'une névrite brachiale, fut piqué par une grosse araignée des tropiques, du genre *Mygale*. Après cette piqûre, le malade ne ressentit plus aucune douleur dans la région de sa névrite. D'autre part, des missionnaires signalèrent que les Indiens, pour guérir de la lèpre, allaient à la chasse du Cobra, afin de s'en faire mordre.

C'est alors que le D^r Monaelesser pensa à utiliser le venin d'araignées, puis celui des Serpents, contre les algies rebelles dans la thérapeutique usuelle ; il employa d'abord le venin de Crotale, puis celui de Cobra, plus riche en neurotoxine.

Dans les cancers du pharynx et du larynx, Halphen, Djiropoulos et Pasqualini, utilisant les données précédentes de Calmette, Taguet et Monaelesser, ont injecté à leurs malades une solution de venin très diluée (1/80000). Ils ont observé, dans la plupart des cas, une diminution des

douleurs et une amélioration de l'état général ; dans un cas même, la disparition complète de la tumeur, et, avec grande prudence, ils ont parlé de guérison.

Hémostatiques. — Certains venins de serpents sont très coagulants vis-à-vis du plasma du sang ; cette propriété pourra donc être utilisée afin d'arrêter les hémorragies ou de combattre l'hémophilie.

Pour traiter certaines hémorragies graves, Peck et Goldberger ont employé le venin d'un Crotaliné, l'*Ancistrodon piscivorus*, en solution très diluée (1/3000 dans une solution de chlorure de sodium). Ils ont traité par des injections sous-cutanées, les hémorragies utérines des animaux et ont constaté une amélioration, alors que toutes les thérapeutiques avaient échoué.

Peck, Crimmins et Lowel ont étudié l'action coagulante du venin de *Bothrops atrox* sur le sang de sujets hémophiles et ont constaté que le temps de coagulation était notablement diminué par addition de ce venin.

Le venin de Vipère Daboïa (*Vipera Russellii*), qui se montre très coagulant, a été employé avec succès dans la thérapeutique des hémorragies nasales. Ces hémorragies banales s'arrêtent généralement d'elles-mêmes ou sous l'influence d'eau oxygénée ou d'antipyrine. On doit cependant quelquefois avoir recours à un spécialiste qui pratique le tamponnement antérieur des fosses nasales. Parfois l'hémorragie est beaucoup plus grave et persiste malgré les tamponnements.

M. Aubry et J. Caussé rapportent les cas de deux malades, chez qui les divers traitements avaient échoué, et

qui ont été soignés avec succès par des applications de venin de Daboïa. Par son action coagulante très énergique, ce venin, en solution au 1/10 000, arrête l'hémorragie.

Le venin de Daboïa peut être employé également en otorhino-laryngologie et en stomatologie.

Tramuset cite plusieurs cas d'amygdalectomie, dans lesquels il arrête l'hémorragie par tamponnement des loges amygdaliennes avec une solution de venin de Daboïa au 1/10 000 ; il observa l'arrêt de tout saignement en 1 ou 2 minutes.

Il est parvenu à arrêter de la même manière une hémorragie, qui s'était déclarée après extraction dentaire et qui n'avait pas cédé aux divers moyens généralement utilisés.

DEUXIÈME PARTIE

RÉCOLTE DU VENIN

La glande venimeuse de la Vipère étant formée d'un acinus, divisé en lobes, eux-mêmes subdivisés en lobules, le serpent ne peut pas inoculer tout son venin par une seule morsure et il est très difficile également de vider artificiellement la glande par une seule compression, s'exerçant du fond de l'acinus vers le canal excréteur. On doit recommencer plusieurs fois l'opération pour obtenir le maximum de venin.

Pour recueillir le venin, la vipère doit être maintenue solidement afin qu'on puisse opérer sans danger. Pour cela, on utilise un bâton, muni à un bout d'une lanière de cuir, glissant librement dans un anneau, fixé à un centimètre de la même extrémité, ce qui permet d'obtenir une boucle plus ou moins grande. L'aide saisit la vipère dans le nœud coulant et l'immobilise en la maintenant le plus près possible de la tête. L'opérateur relève alors la lèvre supérieure de la vipère au moyen d'une pince et place un cristalliseur sous les deux crochets, tandis que l'aide exerce

une pression sur les glandes venimeuses. Le venin s'écoule en une ou deux fines gouttelettes. Immédiatement après la récolte du venin, on sacrifie la vipère en lui coupant la tête, car les vipères ne conservent pas, en captivité, leur aptitude à sécréter du venin.

Le contenu du cristalliseur représente le mélange des sécrétions recueillies sur un certain nombre de vipères. La quantité de venin obtenu varie avec la grosseur des glandes venimeuses et la capacité des lobules, qui servent de réservoir au venin. Pour une même espèce, elle varie aussi avec les périodes de plus ou moins grande activité organique et les conditions de vie (liberté ou captivité), de sorte qu'on ne peut arriver qu'à une approximation dans la détermination de la quantité de venin que peut fournir une espèce à un moment donné. D'autre part, les venins n'ont pas tous la même concentration, et les substances actives se trouvent dans le résidu sec ; aussi immédiatement après sa récolte, on porte le venin sous la cloche à vide pour le dessécher. Au bout de quelques jours, on obtient des paillettes de venin sec, qu'on introduit dans des tubes de verre, qui sont scellés et conservés à l'abri de la lumière. Ces tubes représentent les récoltes d'un mois environ et portent une étiquette, précisant la date de la récolte. A l'Institut Pasteur, le rendement moyen est environ de dix à douze grammes de venin sec par mois, ce qui représente la sécrétion de 1 000 vipères.

C. et M. Phisalix, après avoir fait des prélèvements sur des centaines de sujets, soit au printemps, soit en automne, ont constaté que le poids du venin sec représente 20 à 30 pour 100 de celui du venin frais. La Vipère aspic peut

émettre environ 30 à 40 milligrammes de venin frais, ce qui correspond à 10 à 25 milligrammes de venin sec.

STÉRILISATION DU VENIN

Le venin, étant recueilli directement des glandes venimeuses, dans un cristalliseur stérile, il semble que ce soit un liquide tout à fait aseptique et qu'on puisse l'employer tel quel ; cependant, il peut être souillé par des microbes qui se trouvent dans la salive ou sur les crochets de la vipère. Et comme ce venin est utilisé pour la préparation du sérum antivenimeux et pour d'autres usages thérapeutiques, il importe que les solutions employées soient stériles, afin que leur injection ne détermine pas dans l'organisme une véritable pullulation de microbes.

La stérilisation peut s'obtenir par filtration ou par action de la chaleur ou par addition d'antiseptiques.

La filtration sur bougie de porcelaine n'a pas d'influence bien marquée sur le venin des Colubridés, sa toxicité demeure intacte. Il n'en est pas de même pour le venin des Vipéridés ; C. Phisalix a montré qu'une solution de venin de Vipère aspic perdait toute sa toxicité après filtration, mais conservait ses propriétés vaccinales.

La chaleur peut avoir une certaine action sur la toxicité des venins en solution, et ce sont les venins des Vipéridés les plus sensibles ; lorsque le chauffage atteint la température de 65°, la toxicité est déjà notablement diminuée.

Les antiseptiques utilisés pour la stérilisation des venins sont le formol, le quinosol, etc..... ; mais l'addition de formol a pour effet d'atténuer progressivement le venin, de

sorte que les solutions de venin formolées perdent de leur activité par le vieillissement. On se trouve devant un fait comparable à l'atténuation des toxines microbiennes et on peut parler, dans ce cas, d'anavenins par analogie avec les anatoxines, telles que les a décrites Ramon.

A l'Institut Pasteur, la stérilisation s'obtient par chauffage pendant une demi-heure à 58° de la solution de venin à 1 pour 1 000, additionnée de 5 pour 1 000 de formol (1 goutte pour 10 centimètres cubes).

Pour mettre en évidence la présence de microbes dans le venin, il suffit d'ensemencer un volume connu de la solution dans des tubes de gélose Veillon ; du nombre de colonies microbiennes observées, on peut déduire approximativement la quantité de microbes existant dans un échantillon donné.

L'expérience a été faite sur du venin, récolté en octobre 1936. Nous avons préparé une solution à 1 pour 100 de ce venin, dans l'eau physiologique, dont nous avons fait deux parts : l'une a été conservée telle quelle, l'autre a été stérilisée par chauffage et addition de formol, comme nous l'avons dit précédemment. Puis ces deux solutions ont été diluées au dixième, de sorte que nous avons expérimenté avec des solutions de venin à 1 pour 1 000.

Nous avons fait des ensemencements sur quatre tubes de gélose Veillon (en ayant soin de ne pas introduire d'air) de la façon suivante :

Solution à 1 pour 1 000	{ 2 centimètres cubes.. . . .	1 ^{er} tube.
de venin tel quel.	{ 1 centimètre cube.	2 ^e tube
Solution à 1 pour 1 000	{ 2 centimètres cubes.. . . .	3 ^e tube.
de venin formolé et chauffé.	{ 1 centimètre cube.	4 ^e tube.

et nous avons porté les quatre tubes à l'étuve à 37°. Après un séjour de 48 heures à l'étuve, nous n'avons constaté la présence d'aucune colonie microbienne dans les deux derniers tubes ; tandis que nous avons pu compter 13 colonies dans les deux premiers tubes, et *ces colonies étaient strictement localisées dans la zone anaérobie*. Il y a donc environ 4 colonies microbiennes dans 1 centimètre cube de solution à 1 pour 1 000, soit 4 000 colonies par gramme de venin.

L'expérience a été refaite sur un autre échantillon, et, avec ce venin, nous avons préparé des solutions à 1 pour 100. Les tubesensemencés avec du venin chauffé et formolén'ont pas cultivé, tandis que dans les autres, nous avons pu compter 20 colonies par centimètre cube, soit 2 000 colonies par gramme de venin.

Le venin de Vipère peut contenir des anaérobies pathogènes (B. du tétanos, B. perfringens, B. œdematiens) qui se développent particulièrement bien lorsqu'ils sont au contact de tissus nécrosés. Il est donc absolument indispensable de stériliser les solutions de venin, pour les emplois thérapeutiques éventuels, car, les venins de Vipéridés étant très nécrotiques, ces microbes trouveraient ainsi un milieu très favorable à leur développement.

TITRAGE DE LA TOXICITÉ DU VENIN DE VIPERA ASPIS

La toxicité d'un venin pour une espèce déterminée est mesurée par la quantité de venin sec, capable de provoquer la mort de cette espèce. La toxicité varie évidemment avec le venin considéré et avec l'animal mis en expérience ;

mais, pour le même venin et la même espèce animale, la toxicité dépend encore de la voie d'introduction du venin dans l'organisme (sous-cutanée, intrapéritonéale, intraveineuse, intrarachidienne), de l'échantillon de venin, de son ancienneté, de l'époque de sa récolte, des conditions de sa conservation, etc...

On appelle *unité-souris* (U. S.) la quantité minimum de venin nécessaire et suffisante pour tuer une souris de 25 grammes. L'*unité-lapin-veine* est la dose mortelle par kilogramme de poids vil, le venin étant injecté par voie intraveineuse.

De nombreux auteurs se sont attachés à résoudre cette question de la toxicité des venins et ont expérimenté sur différents animaux ; nous exposerons seulement les résultats obtenus avec le venin des Vipéridés, et en particulier de la *Vipera Russellii* (Daboïa), *Vipera berus*, *Vipera aspis*.

Pour le lapin, la dose mortelle de venin de *Vipera Russellii*, par voie intraveineuse, est :

d'après Calmette : 0^{mgr},05 par kilogramme d'animal ;

d'après Lamb : 0^{mgr},1 à 0^{mgr},075 par kilogramme d'animal ;

d'après Elliot : 3 milligrammes par kilogramme d'animal.

Pour le cobaye, la dose mortelle de venin de *Vipera Russellii*, par voie intrapéritonéale, est :

d'après Calmette : 1 milligramme par kilogramme d'animal.

d'après Lamb : 0^{mgr},20 par kilogramme d'animal ;

d'après Noguchi : 0^{mgr},25 par kilogramme d'animal.

Calmette a déterminé les doses mortelles de venin de *Vipera berus* pour le lapin (4 milligrammes par kilogramme) et pour le cobaye ($0^{\text{mgr}},4$).

M^{me} Phisalix a montré que la quantité de venin de *Vipera aspis* nécessaire pour provoquer la mort du cobaye, en une dizaine d'heures, par voie sous-cutanée, est de $0^{\text{mgr}},5$ à 1 milligramme.

MM. Césari et Boquet ont déterminé les doses de venin de *Vipera aspis*, capables de provoquer la mort, en moins de vingt minutes, chez les différents animaux, injectés dans la veine. Il ont utilisé un échantillon étalon, représentant le mélange des sécrétions de 600 vipères environ, capturées en diverses régions de la France, et ils ont trouvé les chiffres suivants :

$0^{\text{mgr}},35$ pour le lapin par kilogramme d'animal ;

$1^{\text{mgr}},14$ pour le cobaye par kilogramme d'animal ;

5 milligrammes pour la souris par kilogramme d'animal.

Lorsque le venin est introduit par la voie sous-cutanée, les doses mortelles sont d'environ :

6 milligrammes pour le lapin par kilogramme d'animal ;

4 milligrammes pour le cobaye par kilogramme d'animal ;

5 milligrammes pour la souris par kilogramme d'animal.

Ces différentes expériences nous montrent que les animaux de laboratoire réagissent différemment vis-à-vis des poisons des venins.

On peut observer que l'injection du venin dans la veine du lapin produit une coagulation massive du sang avec

arrêt du cœur ; tandis que chez le cobaye ou la souris, le sang est liquide et incoagulable et le cœur continue à battre quelques instants après l'ouverture du cadavre. D'autre part, il est à remarquer que les accidents de l'envenimation aiguë (mort en quelques heures) ou subaiguë (mort en un jour) consécutifs à la pénétration du venin dans le sang, ne se manifestent jamais chez le lapin, alors qu'ils sont courants chez le cobaye et la souris. On peut en déduire que le lapin est beaucoup plus sensible que le cobaye et la souris à l'action coagulante du venin de *Vipera aspis* ; tandis que ceux-ci sont surtout touchés par l'hémorragie.

TITRAGE DU POUVOIR COAGULANT DU VENIN DE VIPERA ASPIS

Depuis les travaux de Bordet et Delange, on admet que la coagulation du sang se fait en deux phases : 1° formation de thrombine, par action réciproque de deux substances, le sérozyme et le cytozyme, en présence des ions calcium ; 2° coagulation du fibrinogène par la thrombine formée. Le cytozyme existe dans les leucocytes et en particulier dans les plaquettes du sang ; quant au sérozyme, présent dans le sérum, son origine n'est pas encore déterminée d'une manière précise.

Les propriétés coagulantes et anticoagulantes des venins des différentes espèces de serpents ont été étudiées, comme nous l'avons vu, par de nombreux auteurs : Stephens et Myers (1898), Noc (1898), Calmette et Noc, C.-J. Martin (1905), Arthus (1910), Massol (1914),

Houssay et Sordelli (1918), Vital Brazil et J. Vellard (1928).

La plupart des auteurs admettent aujourd'hui que l'action coagulante des venins est due à une thrombine préformée dans ces venins ; c'est cette thrombine spécifique qui transformerait le fibrinogène en fibrine. L'action anticoagulante relève soit d'une lipéidase qui détruit le cytozyme, lequel ne peut plus se combiner au sérozyme pour donner la thrombine, soit d'un ferment protéolytique, qui détruit le sérozyme ou qui altère le fibrinogène en détruisant la fibrine au fur et à mesure de sa formation.

Le venin de *Vipera aspis* est à la fois coagulant et anticoagulant ; lorsqu'on fait agir *in vitro* du venin à doses croissantes, sur le plasma du sang, on n'observe que le résultat final de ces deux actions antagonistes, qui se traduit par la somme algébrique des effets dus au pouvoir coagulant et au pouvoir anticoagulant. Cependant, grâce à la technique employée par MM. Césari et Boquet, dérivant de celle utilisée par J. Vellard, on a pu délimiter les actions coagulante et anticoagulante du venin de *Vipera aspis*.

Technique. — **Réactifs employés :** Plasma frais de cheval, obtenu par centrifugation prolongée du sang citraté à 1 pour 100 (95 parties de sang pour 5 parties d'une solution de citrate de soude à 20 pour 100).

Solution de chlorure de calcium au 1/100.

Quatre solutions de venin de *Vipera aspis* titrées au 1/100 (solution-mère), au 1/1 000, au 1/10 000, au 1/100 000. Ces dilutions sont faites avec de l'eau physiologique à un titre spécial (1 gramme de chlorure de sodium par litre d'eau distillée).

Procédé. — Le sang de cheval a été citraté pour éviter sa coagulation immédiate et, de ce fait, il est privé des sels de calcium, qu'il contient normalement. Il est donc indispensable de recalcifier le plasma et, pour cela, il faut déterminer, dans une expérience préliminaire, la quantité de chlorure de calcium nécessaire pour provoquer sa coagulation complète, après deux heures de séjour à l'étuve à 37°.

Dans une batterie de tubes à hémolyse stérilisés, on verse alors dans l'ordre suivant :

1° Dans chaque tube, à l'aide d'une pipette compte-gouttes, débitant XX gouttes au centimètre cube, des doses croissantes de venin :

I goutte, II gouttes, V gouttes des dilutions de venin au 1/100 000, 1/10 000, 1/1 000, 1/100 (solution-mère) qui correspondent à 0^{mgr},0005, 0^{mgr},001, 0^{mgr},0025, 0^{mgr},005, 0^{mgr},01, 0^{mgr},025, 0^{mgr},05, 0^{mgr},1, 0^{mgr},25, 0^{mgr},5, 1 milligramme, 2^{mgr},5.

2° De l'eau physiologique pour compléter le volume à V gouttes dans tous les tubes où cela est nécessaire.

3° Dans tous les tubes, 2 centimètres cubes de plasma citraté.

4° Le nombre de gouttes de la solution de chlorure de calcium au 1/100 déterminé dans l'essai préliminaire.

Un treizième tube, le tube témoin, ne renferme pas de venin ; il contient V gouttes d'eau physiologique et 2 centimètres cubes de plasma citraté recalifié.

On bouche tous les tubes avec des bouchons de caoutchouc stériles, on les retourne sans agiter, afin d'assurer le mélange de tous les réactifs mis en présence, et on les porte à l'étuve à 37°.

On effectue des lectures après un quart d'heure, une demi-heure et une heure de séjour à l'étuve. Les tubes sont alors retirés de l'étuve et laissés à la température du laboratoire, pendant une heure ; on fait alors une dernière lecture.

Avec du venin frais, il suffit de $0^{\text{mgr}},001$ de venin pour provoquer la coagulation de 2 centimètres cubes de plasma en une demi-heure. A partir de $0^{\text{mgr}},5$, c'est l'action anticoagulante du venin qui l'emporte, et le plasma reste liquide. Si, dans ces tubes, on ajoute ultérieurement du sérum frais, riche en thrombine, le plasma reste incoagulable ; ce qui tend à prouver que l'action anticoagulante du venin de *Vipera aspis* est due au ferment protéolytique qui a détruit le fibrinogène ou qui digère la fibrine au fur et à mesure de sa formation.

MM. Césari et Boquet ont étudié l'action de la chaleur sur le pouvoir coagulant et anticoagulant du venin et ils ont constaté que, suivant le degré de chauffage, l'une ou l'autre de ces propriétés étaient différemment altérées.

A 70° , la thrombine du venin perd de son activité, tandis que le pouvoir anticoagulant n'est pas altéré, de sorte que c'est celui-ci qui domine.

A 80° , le pouvoir anticoagulant est atteint, aussi voit-on réapparaître et prédominer, pour certaines concentrations de venin, l'action coagulante. Ce fait a déjà été mis en évidence, à propos d'autres venins, par Houssay et Sordelli.

VARIATIONS SAISONNIÈRES DE L'ACTIVITÉ DU VENIN DE VIPERA ASPIS

Nous avons étudié la toxicité et le pouvoir coagulant du venin de *Vipera aspis* sur des échantillons récoltés à des époques différentes.

1° VARIATIONS DE LA TOXICITÉ.

Phisalix et Bertrand ont signalé que la toxicité du venin de Vipère varie avec les saisons de la récolte et ils ont observé que le venin de mai-juin présentait un maximum d'activité.

Nous avons fait des expériences dans ce sens et nous avons déterminé la toxicité de venins recueillis en avril, mai, juin, août, septembre, octobre et novembre.

Les échantillons utilisés étaient toujours constitués par un mélange des sécrétions de plusieurs centaines de vipères, capturées dans diverses régions de la France.

Les essais ont été faits sur la souris et le lapin.

Expériences sur la souris. — Nous avons utilisé, pour chaque essai, un lot de douze souris, de 18 à 20 grammes, réparties dans trois bocaux, et nous leur avons injecté des doses de venin de 0^{mgr},10, 0^{mgr},25, 0^{mgr},50, sous le volume de 1 centimètre cube.

Nous avons finement pulvérisé, dans un mortier stérile,

le venin desséché en paillettes, en ayant soin d'enlever avec des pinces les crochets de vipères qui y sont toujours mélangés. Puis, nous avons préparé une solution de venin en eau physiologique au 1/1 000 et nous l'avons diluée de moitié : 1 centimètre cube de cette solution contient donc 0^{mgr},50 de venin. Cette solution a été de nouveau diluée de moitié, de sorte que 1 centimètre cube correspond à 0^{mgr},25 de venin. Enfin, nous avons obtenu une troisième solution en diluant au dixième la solution primitive : 1 centimètre cube contient 0^{mgr},10 de venin.

Les souris étant maintenues à l'aide d'une pince, on leur injecte respectivement 0^{mgr},10, 0^{mgr},25, 0^{mgr},50 de venin sous la peau et on note, d'une part, le nombre de souris survivantes, d'autre part, le temps au bout duquel se produit la mort chez les autres.

Expériences sur le lapin. — Les animaux utilisés sont des lapins dont le poids est compris entre 1^{kgr},800 et 2^{kgr},500.

On prépare des solutions de venin en eau physiologique, titrées au 1/1 000 et au 1/10 000 et on introduit dans des verres stériles la quantité de venin à injecter, quantité qui est calculée d'après le poids de l'animal ; on parfait le volume à 7 ou 8 centimètres cubes avec de l'eau physiologique. Puis le lapin étant introduit dans la boîte de contention, on lui injecte le venin dans la veine de l'oreille. On note les symptômes qui accompagnent cette introduction de venin dans l'organisme de l'animal ; si le lapin meurt, on injecte à un autre lapin, une dose inférieure ; s'il survit, on injecte une dose supérieure. Géné-

ralement, lorsque la dose est mortelle, l'animal ne survit que trois à quatre minutes.

Venin récolté en avril 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ ⁽¹⁾ en 1 h. 5.	+ en 1 h. 28.	+ dans la nuit.
+ en 1 h. 26.	+ en 2 h. 43.	+ dans la nuit.
+ en 2 h. 28.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O

Pour une dose de venin de $0^{\text{mgr}},10$, la mort se produit donc en dix à douze heures (les injections ont toujours été faites dans l'après-midi); et avec $0^{\text{mgr}},25$ et $0^{\text{mgr}},50$, les souris meurent en une ou deux heures.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	Roux (30) Poids: 1 800 grammes.
		Quantité de venin à injecter: $0^{\text{mgr}},54$ soit: $5^{\text{cc}},4$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 3 minutes.
$0^{\text{mgr}},20$ par kgr.	{	R ⁽²⁾ (7) Poids: 1 800 grammes.
		Quantité de venin à injecter: $0^{\text{mgr}},36$ soit: $3^{\text{cc}},6$ de solution au 1/10 000.
		Survit.
$0^{\text{mgr}},25$ par kgr.	{	J (7) Poids: 1 800 grammes.
		Quantité de venin à injecter: $0^{\text{mgr}},45$ soit: $4^{\text{cc}},5$ de solution au 1/10 000.
		Survit.

(1) Le signe + indique que la souris a succombé, et o que la souris est survivante.

(2) Afin de distinguer les lapins inoculés de leurs congénères, on leur badigeonne l'oreille avec un tampon de coton imbibé d'un colorant quelconque, jaune, rouge ou bleu; et on les désigne par une lettre J (jaune), R (rouge), B (bleu) à laquelle on joint le numéro de la cage qui les contient.

La dose mortelle pour le lapin est de $0^{\text{mgr}},30$ par kilogramme ; la dose de $0^{\text{mgr}},25$ est inoffensive.

Venin récolté en mai 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
+ en 1 h. 15.	+ en 2 h. 03.	+ en 2 h. 44.
+ en 1 h. 55.	+ en 2 h. 33.	+ en 2 h. 44.
+ en 2 h. 25.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ en 2 h. 25.	+ dans la nuit	O

Les résultats obtenus sont à peu près semblables aux précédents ; le venin présente toutefois une légère augmentation de toxicité. En effet, toutes les souris injectées avec $0^{\text{mgr}},50$ de venin sont mortes en 2 heures ; et parmi celles qui ont reçu une dose de $0^{\text{mgr}},10$, deux ont succombé en 3 heures.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	O (6)	Poids : 2 120 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},636$ soit : $6^{\text{cc}},36$ de solution au 1/10 000.
		Survit.	
$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	Gris (26)	Poids : 2 270 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},7945$ soit : $7^{\text{cc}},945$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 2 minutes.	

La dose de $0^{\text{mgr}},30$ est donc inoffensive pour le lapin.

Venin récolté en juin 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O

Nous constatons une légère diminution de la toxicité ; en effet, les souris qui ont reçu une dose de venin de $0^{\text{mgr}},50$ et de $0^{\text{mgr}},25$ meurent en douze à quinze heures environ, alors que pour la même dose, le venin d'avril les tuait en deux à trois heures. D'autre part, les souris qui ont été injectées avec $0^{\text{mgr}},10$ survivent, tandis qu'avec cette dose du venin d'avril, elles mouraient en une douzaine d'heures.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	Roux (7)	Poids : 2 020 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},606$ soit : $6^{\text{cc}},06$ de solution au 1/10 000.
		Survit.	
$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	J (27)	Poids : 2 100 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},735$ soit : $7^{\text{cc}},35$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 21 minutes.	

Nous remarquons que la toxicité vis-à-vis du lapin diminue également, puisque la dose mortelle est de $0^{\text{mgr}},35$ par kilogramme, et cette quantité de venin n'a produit la mort qu'en 21 minutes. Immédiatement après l'injection, on observe que la respiration du lapin est très accélérée ; puis il s'agite et tombe sur le côté, il est paralysé du train antérieur et reste immobile, inerte. Après 13 minutes, la respiration se ralentit, mais le réflexe cornéen est conservé et le lapin reste sensible à la piqure ; puis l'animal meurt lentement après déglutition d'air.

A l'autopsie, nous avons observé la congestion du foie et de la rate ; l'intestin est semé de taches hémorragiques, les poumons sont pâles. Le sang est liquide dans le cœur et la veine cave, mais il y a des caillots dans la veine porte.

Venin récolté en août 1936.

SOURIS

$0^{mgr},50$	$0^{mgr},25$	$0^{mgr},10$
—	—	—
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
O	+ dans la nuit.	O

Nous ne constatons pas de variation sensible dans le titrage du venin vis-à-vis de la souris.

LAPINS

$0^{mgr},30$ par kgr.	{	R (26)	Poids : 2 000 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{mgr},60$
			soit : 6 cc. de solution au 1/10 000.
			Meurt en 5 minutes.
$0^{mgr},25$ par kgr.	{	J (6)	Poids : 1 900 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{mgr},475$
			soit : 4 ^{cc} ,75 de solution au 1/10 000.
			Survit.

Vis-à-vis du lapin, la toxicité du venin n'a pas diminué, puisque la dose mortelle est de $0^{mgr},30$ par kilogramme.

Venin récolté en septembre 1936.

SOURIS

$0^{mgr},50$	$0^{mgr},25$	$0^{mgr},10$
—	—	—
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O
O	O	O

Avec le venin du mois de septembre, nous constatons une diminution progressive de la toxicité ; il faut une dose

de $0^{\text{mgr}},50$ de venin pour tuer la souris, mais la mort ne se produit que douze à quinze heures après l'injection, tandis qu'avec le venin d'avril la mort s'ensuivait très rapidement (une ou deux heures). De plus, ce venin d'avril tuait les souris à la dose de $0^{\text{mgr}},25$ en quelques heures et à la dose de $0^{\text{mgr}},10$ en une quinzaine d'heures, alors que pour ces doses, le venin de septembre n'est pas mortel.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	R (26 bis) Poids : 1 950 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},585$ soit : $5^{\text{cc}},85$ de solution au 1/10 000.
	{	Survit.
$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	J (26 bis) Poids : 2 300 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},805$ soit : $8^{\text{cc}},05$ de solution au 1/10 000.
	{	Survit.
$0^{\text{mgr}},40$ par kgr.	{	J (10) Poids : 2 000 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},80$ soit : 8 cc. de solution au 1/10 000.
	{	Meurt en 9 minutes.

Les résultats du titrage concordent avec ceux obtenus avec la souris ; la toxicité est notablement diminuée puisqu'il faut une dose de $0^{\text{mgr}},40$ pour provoquer la mort du lapin en 9 minutes ; les animaux injectés avec $0^{\text{mgr}},30$ et $0^{\text{mgr}},35$ survivent.

Venin récolté en octobre 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ en 43'	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
O	O	O

LAPINS

0 ^{mgr} ,35 par kgr.	J (20)	Poids : 2 270 grammes. Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,7945 soit : 7 ^{cc} ,945 de solution au 1/10 000.
	Survit.	
0 ^{mgr} ,40 par kgr.	O (10)	Poids : 2 500 grammes. Quantité de venin à injecter : 1 mgr. soit : 1 cc. de solution au 1/10 000
	Survit.	
0 ^{mgr} ,45 par kgr.	O (11)	Poids : 2 070 grammes. Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,9315 soit : 9 ^{cc} ,315 de solution au 1/10 000.
	Meurt en 3 minutes.	

La toxicité pour le lapin a encore légèrement diminué, puisque la dose mortelle est de 0^{mgr},45 par kilogramme.

Venin récolté en novembre 1936.

SOURIS

0 ^{mgr} ,50	0 ^{mgr} ,25	0 ^{mgr} ,10
—	—	—
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O

LAPINS

0 ^{mgr} ,40 par kgr.	R (5)	Poids : 2 170 grammes. Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,868 soit : 8 ^{cc} ,68 de solution au 1/10 000.
	Survit.	
0 ^{mgr} ,45 par kgr.	J (8)	Poids : 2 180 grammes. Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,981 soit : 9 ^{cc} ,81 de solution au 1/10 000.
	Meurt en 4 minutes.	

Les résultats sont semblables à ceux du titrage précédent, la toxicité n'a pas diminué; la quantité de venin mortelle pour le lapin est de $0^{\text{mgr}},45$ par kilogramme.

Conclusions. — De tous ces titrages, nous pouvons conclure que la toxicité du venin de *Vipera aspis* présente son maximum d'intensité en avril-mai; puis l'activité, déjà plus faible en juin, diminue progressivement jusqu'en novembre; le venin montre toutefois une légère recrudescence de la toxicité en août. La dose mortelle pour le lapin étant de $0^{\text{mgr}},30$ par kilogramme en avril, devient $0^{\text{mgr}},45$ en octobre; entre ces dates extrêmes, elle passe par les doses intermédiaires, $0^{\text{mgr}},35$ et $0^{\text{mgr}},40$.

2° VARIATIONS DU POUVOIR COAGULANT.

Nous avons titré le pouvoir coagulant d'échantillons d'époques différentes, afin de constater si les variations sont parallèles à celles de la toxicité.

Nous avons utilisé la technique décrite précédemment et nous avons déterminé le pouvoir coagulant des venins de Vipère aspic récoltés en avril, mai, juin, juillet, octobre.

Les résultats portés dans le tableau ci-après indiquent l'état du plasma après une demi-heure de séjour à l'étuve à 37° . En consultant ce tableau, nous pouvons constater que les variations sont peu sensibles.

NUMÉRO des TUBES	DOSES de VENIN en mgr.	VENIN D'AVRIL	VENIN de MAI	VENIN de JUIN	VENIN de JUILLET	VENIN D'OCTOBRE
1	2,5	O	O	O	O	O
2	1	O	O	O	O	O
3	0,5	O	c	C	ε	ε
4	0,25	ε	c	C	C	ε
5	0,1	C	C	C	C	C
6	0,05	C	C	C	C	C
7	0,025	C	C	C	C	C
8	0,01	C	C	c	C	C
9	0,005	C	C	c	C	c
10	0,0025	C	C	c	c	O
11	0,001	c	c	ε	O	O
12	0,0005	c	c	ε	O	O
13 témoin.	O	O	O	O	O	O

C, coagulation uassive; c, coagulation partielle; O, absence de coagulation;
ε, d but de coagulation.

Venin récolté en avril 1936.

La coagulation du plasma est totale avec une dose de venin de $0^{mgr},0025$. Avec $0^{mgr},0005$ et $0^{mgr},001$, il y a coagulation partielle. A partir de $0^{mgr},25$, c'est le pouvoir anticoagulant qui prédomine, le plasma ne présente qu'un léger noyau de fibrine; et pour $0^{mgr},5$, 1 milligramme et $2^{mgr},5$, le plasma est complètement liquide.

Venin récolté en mai 1936.

La coagulation se produit aux mêmes doses qu'avec le venin d'avril. Par contre, le pouvoir anticoagulant se trouve légèrement atténué, puisqu'aux doses de $0^{\text{mgr}},25$ et $0^{\text{mgr}},50$, le plasma est coagulé partiellement.

Venin récolté en juin 1936.

Le venin se montre un peu moins coagulant ; il faut $0^{\text{mgr}},025$ pour produire la coagulation totale de 2 centimètres cubes de plasma, avec $0^{\text{mgr}},0025$, on n'observe que la coagulation partielle et avec $0^{\text{mgr}},0005$, début de coagulation. Le pouvoir anticoagulant du venin diminue également, puisque le plasma est entièrement coagulé avec une dose de $0^{\text{mgr}},5$.

Venin récolté en juillet 1936.

Avec des doses de $0^{\text{mgr}},0005$ et $0^{\text{mgr}},001$, le plasma reste liquide ; il faut une quantité de venin de $0^{\text{mgr}},0025$ pour produire sa coagulation partielle.

Venin récolté en octobre 1936.

Le venin accuse une légère diminution de son pouvoir coagulant ; en effet, le plasma des trois derniers tubes est entièrement liquide ; il y a coagulation partielle pour la dose de $0^{\text{mgr}},005$.

Conclusions. — Le pouvoir coagulant du venin diminue donc d'intensité d'avril-mai à octobre ; avec le venin d'avril, une dose de 0^{mg}r,0005 suffit à provoquer la coagulation partielle du plasma ; avec le venin d'octobre, il faut une quantité dix fois plus forte, 0^{mg}r,005, pour obtenir le même résultat.

CONSERVATION DES PROPRIÉTÉS DU VENIN DE VIPÈRE ASPIC

Nous avons vu que la toxicité et le pouvoir coagulant du venin de Vipère variaient suivant le mois de la récolte. Nous allons rechercher dans ce chapitre si un venin, titré au point de vue de sa toxicité et de son pouvoir coagulant, conserve ses propriétés pendant un temps indéterminé ; dans ce but, nous avons fait des titrages sur du venin conservé à l'état sec et sur du venin conservé en solution aqueuse. Notre étude comprendra donc quatre parties :

1° Titrage de la toxicité du venin, conservé en solution aqueuse.

2° Titrage de la toxicité du venin, conservé à l'état sec.

3° Titrage du pouvoir coagulant du venin, conservé en solution aqueuse.

4° Titrage du pouvoir coagulant du venin, conservé à l'état sec.

1° TITRAGE DE LA TOXICITÉ DU VENIN, CONSERVÉ EN SOLUTION AQUEUSE.

Les solutions de venin en eau distillée ou en eau physiologique s'altèrent rapidement et se peuplent de microbes.

M^{me} Phisalix signale qu'on peut leur conserver leur toxicité en les additionnant de leur volume de glycérine. Le chloroforme et l'éther ont également été employés avec succès, mais la conservation qu'ils assurent est de faible durée.

Nous avons préparé une solution de venin (août 1936) en eau physiologique, titrée au 1/1000, et nous l'avons additionnée de quinosol, dans la proportion de 1 pour 5000, afin d'empêcher le développement des moisissures. Cette solution a été répartie dans une dizaine de tubes qui ont été scellés et mis à la glacière. Les titrages ont été faits tous les quinze jours environ pendant dix semaines.

Titrage du 18 septembre 1936.

SOURIS

<u>0^{mgr},50</u>	<u>0^{mgr},25</u>	<u>0^{mgr},10</u>
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
O	+ dans la nuit.	O

Les doses de 0^{mgr},50 et 0^{mgr},25 sont mortelles pour la souris en une dizaine d'heures ; les souris, injectées avec 0^{mgr},10 de venin, survivent.

LAPINS

0 ^{mgr} ,30 par kgr.	{	R (26)	Poids : 2000 grammes.
			Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,60
			soit : 6 cc. de solution au 1/10000.
			Meurt en 5 minutes.
0 ^{mgr} ,25 par kgr.	{	J (6)	Poids : 1900 grammes.
			Quantité de venin à injecter : 0 ^{mgr} ,475
			soit : 4 ^{cc} ,75 de solution au 1/10000.
			Survit.

Le lapin supporte la dose de $0^{\text{mgr}},25$ par kilogramme et meurt quand il reçoit $0^{\text{mgr}},30$ de venin.

Titrage du 29 septembre 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ en 1 h. 02.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	O	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	O (7)	Poids : 1 770 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},531$
			soit : $5^{\text{cc}},31$ de solution au 1/10 000.
			Meurt en 3 minutes.
$0^{\text{mgr}},25$ par kgr.	{	O (8)	Poids : 1 530 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},3825$
			soit : $3^{\text{cc}},825$ de solution au 1/10 000.
			Survit.

Ce titrage ne révèle aucune diminution de la toxicité du venin. La dose mortelle pour le lapin est encore de $0^{\text{mgr}},30$ par kilogramme.

Titrage du 23 octobre 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O

La toxicité vis-à-vis des souris n'a pas varié ; les résultats obtenus sont semblables à ceux des premiers titrages.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},30$ par kgr.	{	R (28) Poids : 1 900 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},57$ soit : $5^{\text{cc}},7$ de solution au 1/10 000.
	{	Survit.
$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	J (28) Poids : 2 000 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},70$ soit : 7 cc. de solution au 1/10 000.
	{	Meurt en 5 minutes.

Le venin accuse une légère diminution de la toxicité vis-à-vis du lapin, puisqu'il résiste à la dose de $0^{\text{mgr}},30$; il faut lui injecter une quantité de venin de $0^{\text{mgr}},35$ par kilogramme pour déterminer la mort.

Titrage du 17 novembre 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O

Ces résultats nous confirment l'affaiblissement de la toxicité du venin ; sur quatre souris qui ont reçu la dose de $0^{\text{mgr}},25$, une seule a succombé, et les quatre souris, injectées à $0^{\text{mgr}},10$, survivent.

LAPINS

$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	R (31 bis) Poids : 2 400 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},84$ soit : $8^{\text{cc}},4$ de solution au 1/10 000.
	{	Survit.
$0^{\text{mgr}},40$ par kgr.	{	J (31 bis) Poids : 2 350 grammes.
		Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},94$ soit : $9^{\text{cc}},4$ de solution au 1/10 000.
	{	Meurt en 5 minutes.

La toxicité du venin vis-à-vis du lapin est également atténuée ; la dose de $0^{\text{mgr}},35$ est inoffensive, il faut injecter $0^{\text{mgr}},40$ par kilogramme pour provoquer la mort.

Titrage du 2 décembre 1936.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ en 1 h. 45.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	O	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}},40$ par kgr.	{	R (26)	Poids : 2 030 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},812$ soit : $8^{\text{cc}},12$ de solution au 1/10 000.
			Survit.
$0^{\text{mgr}},45$ par kgr.	{	J (26)	Poids : 2 350 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $1^{\text{mgr}},0575$ soit : 1 cc. de solution au 1/1 000 et $0^{\text{cc}},575$ de solution au 1/10 000.
			Meurt en 50 minutes.

L'atténuation de la toxicité s'affirme dans ce dernier titrage, la dose mortelle est de $0^{\text{mgr}},45$ par kilogramme pour le lapin.

Conclusions. — Il résulte de toutes ces expériences que les solutions aqueuses de venin perdent progressivement leur toxicité. En dix semaines, la dose mortelle pour le lapin passe de $0^{\text{mgr}},30$ à $0^{\text{mgr}},45$ par kilogramme.

Nous allons rechercher maintenant si le venin garde sa toxicité lorsqu'il est conservé à l'état sec.

2° TITRAGE DE LA TOXICITÉ DU VENIN,
CONSERVÉ A L'ÉTAT SEC.

D'après M^{me} Phisalix, le venin desséché à la température ordinaire ne perd aucune de ses propriétés générales, son action locale est parfois un peu atténuée. Le venin se conserve très bien dans l'air sec ou dans le vide, même à la température ordinaire, sous tous les climats : Weir-Mitchell a vérifié le fait pour du venin de Crotale prélevé depuis 23 ans, Christison pour du venin de Cobra conservé depuis 15 ans et Wolmer pour ce même venin conservé depuis 16 ans. Du venin de vipère, conservé par Phisalix depuis 28 ans, a conservé sa toxicité initiale.

D'après Noguchi, la chaleur n'altère pas les propriétés du venin sec ; il conserve sa toxicité après un long séjour dans une étuve à 130°.

Le froid n'a également aucune action sur la toxicité du venin sec.

Nous avons prélevé quelques grammes de venin sur un échantillon récolté en mai 1936 et nous les avons répartis dans deux tubes, qui ont été conservés l'un à la glacière à 4°, l'autre à l'étuve à 37°. Nous avons fait un titrage préliminaire de la toxicité, le 19 juin 1936, un autre, sept mois après, et un dernier, onze mois après, afin de comparer les résultats obtenus.

Titrage du 19 juin 1936.

SOURIS

0 ^{mgr} ,50	0 ^{mgr} ,25	0 ^{mgr} ,10
—	—	—
+ en 1 h. 15.	+ en 2 h. 03.	+ en 2 h. 44.-
+ en 1 h. 55.	+ en 2 h. 33.	+ en 2 h. 44
+ en 2 h. 25.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ en 2 h. 25.	+ dans la nuit.	O

Une seule souris, injectée à $0^{\text{mgr}}, 10$, survit, les autres meurent en quelques heures ; il en est de même pour les souris qui ont reçu $0^{\text{mgr}}, 25$ et $0^{\text{mgr}}, 50$ de venin.

LAPINS

$0^{\text{mgr}}, 30$ par kgr.	{	O (6)	Poids : 2 120 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}}, 636$ soit : $6^{\text{cc}}, 36$ de solution au 1/10 000.
		Survit.	
$0^{\text{mgr}}, 35$ par kgr.	{	Gris (26)	Poids : 2 270 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}}, 7945$ soit : $7^{\text{cc}}, 945$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 2 minutes.	

Pour le lapin, la dose mortelle est de $0^{\text{mgr}}, 35$ par kilogramme ; deux lapins, qui ont reçu une dose de $0^{\text{mgr}}, 30$, ont survécu.

Titrage du 19 janvier 1937.

Échantillon conservé à la glacière.

SOURIS

$0^{\text{mgr}}, 50$	$0^{\text{mgr}}, 25$	$0^{\text{mgr}}, 10$
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	O	O
+ dans la nuit.	O	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}}, 35$ par kgr.	{	R (28)	Poids : 2 180 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}}, 763$ soit : $7^{\text{cc}}, 63$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 3 minutes.	

Nous obtenons des résultats identiques à ceux du titrage de départ, la toxicité n'a pas varié ; après sept mois de

séjour à la glacière, la dose mortelle de venin pour le lapin, est encore de $0^{\text{mgr}},35$ par kilogramme.

Échantillon conservé à l'étuve.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	O	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}},35$ par kgr.	{	O (28)	Poids : 2 100 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $0^{\text{mgr}},735$ soit : $7^{\text{cc}},35$ de solution au 1/10 000.
		Survit.	
$0^{\text{mgr}},40$ par kgr.	{	J (26)	Poids : 3 020 grammes.
			Quantité de venin à injecter : $1^{\text{mgr}},208$ soit : 1 cc de solution au 1/1 000 et $2^{\text{cc}},08$ de solution au 1/10 000.
		Meurt en 4 minutes.	

Le titrage accuse une légère diminution de la toxicité pour cet échantillon, conservé à l'étuve ; la dose mortelle pour le lapin passe de $0^{\text{mgr}},35$ à $0^{\text{mgr}},40$ par kilogramme.

Titrage du 19 mai 1937.

Échantillon conservé à la glacière.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
—	—	—
+ en 44 minutes.	+ en 57 minutes.	O
+ en 44 minutes.	+ en 57 minutes.	O
+ en 1 h. 40.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit,	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}},35$ par kgr. $\left\{ \begin{array}{l} \text{O (17)} \text{ Poids : } 2\,260 \text{ grammes.} \\ \text{Quantité de venin à injecter : } 0^{\text{mgr}},791 \\ \text{soit : } 7^{\text{cc}},91 \text{ de solution au } 1/10\,000. \\ \text{Survit.} \end{array} \right.$

La toxicité du venin est un peu affaiblie, puisque le lapin survit, quand on lui injecte une dose de $0^{\text{mgr}},35$ par kilogramme.

Échantillon conservé à l'étuve.

SOURIS

$0^{\text{mgr}},50$	$0^{\text{mgr}},25$	$0^{\text{mgr}},10$
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	+ dans la nuit.
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O
+ dans la nuit.	+ dans la nuit.	O

LAPINS

$0^{\text{mgr}},40$ par kgr. $\left\{ \begin{array}{l} \text{B (17)} \text{ Poids : } 2\,130 \text{ grammes.} \\ \text{Quantité de venin à injecter : } 0^{\text{mgr}},852 \\ \text{soit : } 8^{\text{cc}},52 \text{ de solution au } 1/10\,000. \\ \text{Meurt en } 25 \text{ minutes.} \end{array} \right.$

Nous n'observons pas de fortes variations dans la toxicité ; le lapin injecté avec $0^{\text{mgr}},40$ de venin meurt en 25 minutes, alors que, dans le titrage de janvier, la mort survenait en 4 minutes.

Conclusions. — Lorsque le venin est conservé à l'état sec, sa toxicité varie peu ; il y a cependant une petite différence à établir suivant que la conservation se fait à la glacière ou à l'étuve. L'échantillon est pratiquement inal-

téré après un an de séjour à la glacière ; par contre, on observe un léger affaiblissement de la toxicité pour le venin, conservé à l'étuve à 37°.

3° TITRAGE DU POUVOIR COAGULANT DU VENIN, CONSERVÉ EN SOLUTION AQUEUSE.

Nous avons vu qu'il était indispensable de stériliser les solutions de venin, afin d'empêcher le développement des microbes et nous avons indiqué que le procédé employé à l'Institut Pasteur consistait à chauffer ces solutions à la température de 58° pendant une demi-heure. Mais la chaleur a-t-elle une action sur le pouvoir coagulant des venins ?

Il a été constaté que l'action coagulante était maxima pour les températures de 37° à 50°.

En 1905, C.-J. Martin a montré que les venins perdaient leurs propriétés coagulantes très rapidement à la température de 75° et plus lentement à la température ordinaire.

Houssay et Sordelli (1919) ont constaté que les venins perdent leur pouvoir coagulant à 75° et qu'ils le récupèrent, si le chauffage atteint la température de 90°.

Lamb (1903) a observé que le pouvoir anticoagulant du venin de Cobra est également très atténué par le chauffage à 75° pendant 30 minutes.

D'autre part, la dilution du venin a une action sur ses propriétés coagulantes ; C.-J. Martin (1905) montre que le pouvoir coagulant des venins de *Pseudechis*, *Notechis*, *Echis*, *Daboïa*, diminue d'autant plus rapidement que le venin est plus dilué.

Dans les expériences qui suivent, nous nous sommes proposé de rechercher si le vieillissement des solutions avait une action sur les propriétés coagulantes du venin.

Nous avons préparé une solution de venin de *Vipera aspis* au 1/100, que nous avons additionnée de formol (une goutte pour 10 centimètres cubes) et chauffée pendant une demi-heure à 58°; ensuite, nous lui avons ajouté du quinosol dans la proportion de 1 centimètre cube pour 5 000 centimètres cubes. Cette solution-mère a servi à la préparation de dilutions qui nous ont permis d'essayer l'action coagulante de doses progressivement croissantes de venin sur le plasma de cheval. La solution au 1/100 (après avoir réservé le volume destiné aux dilutions nécessaires pour l'essai préliminaire) a été répartie dans plusieurs tubes, afin de faire des titrages à des intervalles de temps déterminés. Les tubes ont été scellés et mis à la glacière.

Nous avons fait un second titrage, sept semaines environ après le premier, et nous avons constaté que le venin avait en partie perdu son pouvoir coagulant. En effet, lors du premier titrage, une dose de 0^{mg},001 était suffisante pour produire la coagulation de deux centimètres cubes de plasma, après quinze minutes de séjour à l'étuve; sept semaines après, il fallait 0^{mg},25 de venin pour provoquer un début de coagulation.

Notons que le pouvoir anticoagulant du venin s'atténue aussi par le vieillissement. A la dose de 1 milligramme (2^e titrage), le plasma était coagulé partiellement, alors que dans l'expérience primitive, le plasma était entièrement liquide.

Nous avons recommencé une autre série d'expériences

en faisant des titrages beaucoup plus rapprochés, de semaine en semaine.

Nous avons utilisé un échantillon de venin récolté en août 1935 et nous avons déterminé le pouvoir coagulant de la *solution telle quelle*, de la *solution formolée*, de la *solution formolée et chauffée*. Voici les résultats que nous avons obtenus, lors du premier titrage, le 15 février 1937 :

NUMÉRO des TUBES	DOSES DE VENIN en mgr.	VENIN TEL QUEL			VENIN FORMOLÉ			VENIN FORMOLÉ ET CHAUFFÉ		
		1/4 h.	1/2 h.	1 h.	1/4 h.	1/2 h.	1 h.	1/4 h.	1/2 h.	1 h.
1	2,5	O	O	O	O	O	O	O	O	O
2	1	O	O	O	O	O	O	O	O	O
3	0,5	c	ε	ε	O	O	O	c	c	ε
4	0,25	C	c	c	C	C	C	c	c	c
5	0,1	C	C	C	C	C	C	C	C	C
6	0,05	C	C	C	C	C	C	C	C	C
7	0,025	C	C	C	C	C	C	C	C	C
8	0,01	C	C	C	C	C	C	c	c	c
9	0,005	C	C	C	C	C	C	c	c	c
10	0,0025	O	c	c	C	C	C	c	c	c
11	0,001	O	c	c	c	c	c	ε	ε	c
12	0,0005	O	ε	c	ε	ε	c	ε	ε	c
13 témoin.	0	O	O	ε	O	O	O	O	O	O

L'addition de formol ne modifie pas sensiblement les propriétés coagulantes du venin, les résultats sont à peu près identiques. Par contre, le chauffage a une action sur

le pouvoir coagulant dont l'activité est légèrement diminuée ; la dose de $0^{\text{mgr}},005$ ne produit qu'une coagulation partielle, il faut une quantité cinq fois plus forte, $0^{\text{mgr}},025$, pour observer la coagulation totale du plasma.

De semaine en semaine, nous avons fait simultanément le titrage du pouvoir coagulant du venin formolé et du venin formolé et chauffé. Dans le tableau ci-après, nous rapportons les résultats observés pour le venin non chauffé, après une demi-heure de séjour à l'étuve.

NUMÉRO des TUBES	DOSES de VENIN en mgr.	15 FÉVRIER 1937	23 FÉVRIER 1937	2 MARS 1937	10 MARS 1937	17 MARS 1937
1	2,5	O	O	O	O	O
2	1	O	O	c	ε	ε
3	0,5	O	O	C	c	c
4	0,25	C	C	C	C	C
5	0,1	C	C	C	C	C
6	0,05	C	C	C	C	c
7	0,025	C	C	C	c	c
8	0,01	C	C	C	c	ε
9	0,005	C	O	c	O	O
10	0,0025	C	O	c	O	O
11	0,001	c	O	O	O	O
12	0,0005	ε	O	O	O	O
13 témoin	O	O	O	O	O	O

Au départ, la quantité de venin nécessaire pour obtenir la coagulation massive du plasma est de $0^{\text{mgr}},0025$.

Le 23 février, il faut une dose quatre fois plus forte, $0^{\text{mgr}},01$, pour obtenir le même résultat.

Le 2 mars, le pouvoir coagulant ne se montre pas affaibli.

Le 10 mars, la dose de $0^{\text{mgr}},01$ ne produit que la coagulation partielle du plasma : pour obtenir la coagulation totale, il faut $0^{\text{mgr}},05$ de venin.

Le 17 mars, l'atténuation s'accroît ; il faut une quantité de venin de $0^{\text{mgr}},1$ pour provoquer la coagulation totale du plasma.

Le pouvoir anticoagulant est également atténué : alors que le plasma des trois tubes, qui contiennent les plus fortes doses, est entièrement liquide dans la première expérience — par contre, il présente un coagulum plus ou moins important dans le dernier titrage.

Les titrages faits sur le venin formolé et chauffé accusent pareillement une diminution progressive du pouvoir coagulant qui va plus loin que pour le venin non chauffé, de sorte que, dans la dernière expérience, l'atténuation est presque totale. Les résultats rapportés dans le tableau ci-contre ont trait à des tubes de plasma, qui ont été pendant une demi-heure, à l'étuve à 37° .

Au deuxième titrage, la dose susceptible de provoquer la coagulation totale du plasma est la même que le 15 février : $0^{\text{mgr}},025$. Mais les quatre derniers tubes contiennent un plasma entièrement liquide, alors qu'au premier titrage, il était plus ou moins coagulé.

Le 2 mars, il faut $0^{\text{mgr}},05$ pour produire la coagulation complète du plasma.

Le 17 mars, aucune dose de venin n'est plus capable de coaguler entièrement le plasma ; avec 0^{mgr},25, la coagulation n'est que partielle.

NUMÉRO des TUBES	DOSES de VENIN en mmgr.	15 FÉVRIER 1937	23 FÉVRIER 1937	2 MARS 1937	10 MARS 1937	17 MARS 1937
1	2,5	O	O	O	O	O
2	1	O	O	c	ε	ε
3	0,5	c	O	C	c	ε
4	0,25	c	C	C	C	c
5	0,1	C	C	C	C	ε
6	0,05	C	C	C	C	ε
7	0,025	C	C	c	C	ε
8	0,01	c	c	c	c	ε
9	0,005	c	O	ε	O	O
10	0,0025	c	O	ε	O	O
11	0,001	ε	O	O	O	O
12	0,0005	ε	O	O	O	O
13 témoin	O	O	O	O	O	O

Comme pour le venin non chauffé, le pouvoir anticoagulant du venin chauffé et formolé est également atténué par le vieillissement des solutions.

Conclusions. — Le venin, en solution aqueuse, chauffée ou non, ne conserve son pouvoir coagulant qu'un temps très court. L'atténuation est progressive ; en un mois,

la diminution est déjà importante et, en deux mois, cette propriété a presque complètement disparu (1).

4° TITRAGE DU POUVOIR COAGULANT DU VENIN,
CONSERVÉ A L'ÉTAT SEC.

MM. Césari et Boquet ont montré que le venin, conservé pendant un an, à l'état sec, n'avait pas perdu ses propriétés coagulantes.

Nous avons titré au mois de mai et au mois de décembre, c'est-à-dire à sept mois d'intervalle, le pouvoir coagulant d'un échantillon de venin et nous avons obtenu des résultats à peu près identiques.

(1) Des expériences, analogues aux précédentes, ont été effectuées sur un échantillon de venin de Vipère Daboïa, en solution aqueuse, tel qu'il est délivré dans le commerce, pour l'usage médical, mais dont nous ignorons la date de préparation.

In vitro, la dose minimum coagulante de ce venin à l'égard de 2 centimètres cubes de plasma de cheval citraté, puis recalcifié, est de 0^{mg},0005 après un séjour de 15 minutes à l'étuve à 37°.

In vivo, l'injection dans la veine d'une dose correspondant à 0^{mg},30 de venin sec par kilogramme de poids vif, détermine la mort du lapin en 5 minutes par coagulation massive du sang.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

En ces dernières années, l'emploi des venins comme agents thérapeutiques s'est considérablement répandu. On a cherché à tirer parti des propriétés neurotoxiques de certains venins (Colubridés) dans le traitement des algies cancéreuses ; — des propriétés nécrotiques de quelques autres (Crotalinés) dans le traitement des tumeurs malignes ; — enfin des propriétés coagulantes des venins de Vipéridés pour combattre certains états hémorragiques, en s'adressant surtout au venin de la *Vipera Russellii* (Daboia), qui est un serpent de l'Inde.

Nous avons pensé que l'on pourrait tirer parti, pour le même usage, des propriétés coagulantes du venin de la Vipère commune d'Europe, très répandue en France.

En raison des infections microbiennes dont ils peuvent être l'origine, il est indispensable d'assurer la stérilisation des venins destinés aux usages thérapeutiques.

D'autre part, en raison de leur nocivité propre, il est nécessaire de déterminer le degré de toxicité des venins dont on veut faire usage, afin de les employer à des doses inoffensives.

La stérilisation peut s'opérer par filtration, ou par action de la chaleur, ou par addition d'antiseptiques ; mais ces divers traitements ont pour effet de modifier les propriétés du venin. La détermination de la toxicité et du pouvoir coagulant devra donc être faite sur les solutions de venin préalablement stérilisées.

Or nous avons vu que l'activité du venin — toxicité et pouvoir coagulant — passait par un maximum en avril-mai et qu'elle diminuait progressivement jusqu'en novembre.

Les solutions aqueuses de venin perdent peu à peu leur toxicité ; en dix semaines, la dose mortelle pour le lapin, par voie intraveineuse, passe de 0^{mg},30 à 0^{mg},45 par kilogramme. De même le venin, en solution aqueuse, ne conserve son pouvoir coagulant qu'un temps très court ; en un mois, la diminution est déjà importante, et, en deux mois, cette propriété a presque complètement disparu.

Par contre, le venin conservé à l'état sec est pratiquement inaltéré, après un an de séjour à la glacière ; on observe toutefois un léger affaiblissement de la toxicité, lorsqu'il est conservé à l'étuve. De même le pouvoir coagulant présente une certaine stabilité, lorsque le venin est conservé à l'état sec.

Il est donc préférable d'employer du venin récolté en avril-mai, époque à laquelle il présente son maximum d'activité. Pour les applications basées sur son action coagulante, il est nécessaire d'utiliser des solutions fraîchement préparées, ou mieux de conserver le venin à l'état sec, et de faire les solutions extemporanément.

BIBLIOGRAPHIE

- ABANO (P. d'). — Traité des venins, traduit de latin en français par Lazare Boet, 1593, ch. vi, p. 136.
- ARTHUS (M.). — Recherches sur la coagulation du sang. *Thèse Doct. ès Sc.*, 1890.
- AUBRY (M.) et CAUSSÉ (J.). — Le venin de Vipère Daboïa dans l'épistaxis. *Presse médicale*, 23 décembre 1936.
- BARRE (P.). — Les abus de la thériaque.
- BORDET (J.). — Considérations sur les théories de la coagulation du sang. *Mémoires publiés à l'occasion du jubilé de Elie Metchnikoff*, 1915, p. 655-689.
- BRAZIL (V.). — La défense contre l'ophidisme, Sao-Paulo, 1914.
- CALMETTE (A.). — Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse, 1907, p. 181.
- CALMETTE (A.). — L'hémolysine des venins de Serpents. *B. I. P.*, 1907, p. 193-200.
- CÉSARI (E.) et BOQUET (P.). — Recherches sur les antigènes des venins et les anticorps des sérums antivenimeux ; venin de *Vipera aspis* et sérums antivipérins (premier mémoire). *Ann. Inst. Past.*, septembre 1935, tome 55, p. 307.
- CÉSARI (E.), BAUCHE (J.) et BOQUET (P.). — Sur une race de Vipère aspic à venin blanc. *Extrait des Comptes rendus des séances de l'Acad. des Sc.*, 14 octobre 1935, tome 201, p. 683.
- DELEZENNE (C.) et LEDEBT (S.). — Nouvelle contribution à l'étude des substances hémolytiques dérivées du sérum et du vitellus de l'œuf soumis à l'action des venins. *C. R. Ac. des Sc.*, 1912, CLV, p. 1101.

- DELEZENNE (C.) et FOURNEAU (E.). — Constitution du phosphatide hémolysant (lysocithine) provenant de l'action du venin de Cobra sur le vitellus de l'œuf de poule. *Bull. de la Soc. Chim. de France*, 1914, 4^e s., XV, p. 421-434.
- FLEXNER and NOGUCHI. — Snake venom in relations to hemolysin and toxicity. *Journ. of. exp. med.*, 1902, VI, p. 277-301.
- FRACASSINI (T.). — Veleni animali attivi e animali avvelenatori. I tanatofidi in particolare, An XIII.
- GRIVE (L. DE LA). — Antiparallèle des Vipères romaines et Herbes Candiottes.
- HALPERN (N.). — Considérations sur les propriétés physiologiques de quelques venins, 1936.
- HOUSSAY (B.-A.) et SORDELLI (A.). — Action *in vitro* des venins sur la coagulation du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, LXXXI, p. 12.
- LAIGNEL-LAVASTINE, HUET et KORESSIOS. — Sur les propriétés coagulantes du venin de Vipère Daboïa. *Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1935, t. LIX, p. 1529-1593.
- LEDEBT (Suzanne). — Contribution à l'étude des propriétés biologiques des venins. Action des venins de Serpents et des poisons qu'ils engendrent sur quelques vertébrés aquatiques. *Thèse Doct. ès Sc.*, Paris, 1914, ch. VII, p. 73-86.
- NOC (F.). — Sur quelques propriétés physiologiques des différents venins des Serpents. I. Pouvoir hémolytique comparé des venins. *Ann. Inst. Past.*, XVIII, p. 307-406.
- NOC (F.). — Sur quelques propriétés physiologiques des différents venins des Serpents. II. Pouvoir coagulant. *Ann. Inst. Past.*, 1904, XVIII, p. 387-406.
- NOGUCHI (H.). — Snake venoms. An investigation of venomous snakes with special reference to the phenomena of their venoms. Washington, 1909, p. 72-73.
- PECK, CRIMMINS et LOWEL. — Coagulating power of Bothrops atrox venom on hemophilic blood. *Proceed. Soc. Exp. Biol. a Med.*, 1935, t. XXXII, p. 1525.
- PHISALIX (C.). — Venins et coagulabilité du sang. *C. R. Soc. Biol.*, 1899, LI, p. 834.
- PHISALIX (C.). — Sur la coagulation du sang chez la Vipère. *C. R. Soc. Biol.*, 1899, LI, p. 881.
- PHISALIX (C.). — Action du filtre de porcelaine sur le venin de Vipère.

Séparation des substances toxiques et des substances vaccinales.
C. R. Académie des Sciences, 1896, CXXII, p. 1439.

PHISALIX (Marie). — Animaux venimeux et venins, 1922, tome II,
p. 221-818.

PHISALIX (Marie). — Emploi rationnel des venins en thérapeutique.
Bull. de l'Acad. de Méd., 5 janvier 1937.

PHISALIX (Marie). — Les vipères au Jardin du Roy et à l'Académie
des Sciences. *Progrès médical*, 1937.

ROLLINAT (R.). — La vie des reptiles de la France centrale.

Vu :
Le Président de la Thèse,
L. LUTZ.

Vu :
Le Doyen de la Faculté,
Paul GUÉRIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

